



TITLE:

# 生体酸素利用機構の酵素学的研究 - Tryptonhan Pyrrolaseの酸素化型反 応中間体について (Abstract\_要旨)

AUTHOR(S):

石村, 巽

---

CITATION:

石村, 巽. 生体酸素利用機構の酵素学的研究 - Tryptonhan Pyrrolaseの酸素化型反応中間体について. 京都大学, 1968, 医学博士

ISSUE DATE:

1968-11-25

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/212965>

RIGHT:

氏 名	石 村 巽 いし むら ゆずる
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 369 号
学位授与の日付	昭 和 43 年 11 月 25 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学位論文題目	生体酸素利用機構の酵素学的研究 —Tryptophan Pyrrolase の酸素化型反応中間体について

論文調査委員 (主 査) 教授 早 石 修 教授 島 本 暉 朗 教授 沼 正 作

### 論 文 内 容 の 要 旨

Tryptophan Pyrrolase は、ヘムを含む二原子酸素添加酵素であり、哺乳動物の肝臓、昆虫、ある種のバクテリアなどに広く分布してトリプトファンの完全分解、NAD の生合成、色素形成などに関係する生理的に重要な酵素である。この酵素は動物においては最初に発見された誘導酵素例であり、その活性および組織内含量はトリプトファンの投与副腎皮質ホルモン投与あるいはストレスなど種々の要因により著しく増加し、またある種の病的状態例えば悪性腫瘍などでは低下する。したがってこの酵素の反応機構の研究は、代謝調節機構および病態生理の解明などに関連するとともに、ヘム蛋白中唯一の二原子酸素添加酵素であることから生体酸素利用機構の研究にユニークな例を与えるものと思われる。

本研究で著者は緑膿菌より高度に精製した酵素標品を用いて主として分光光学的方法により本酵素の反応機構を追求し下記の知見を得た。

(1) この酵素は従来よりヘム蛋白であることが知られているが、今高濃度の精製酵素を使ってその吸収スペクトルを詳細に調べると典型的なハイスピン型ヘム蛋白の像を示し、その吸収極大は酸化型で 405, 500 および 635m $\mu$ 、還元型で 432, 553 および 588m $\mu$  である。

(2) 本酵素の活性型は還元型 (2 価鉄型) であり、酸化型 (3 価鉄型) は触媒活性を示さない。

(3) 反応中のヘム鉄の挙動を追究すると、酸化型でも還元型でもない新しい吸収が得られた。この吸収は反応により酸素が消費されつくと直ちにもとの還元型にもどり、再び酸素を与えるとまた出現する。またこの吸収の極大位置は 418, 545 および 580m $\mu$  であり、従来知られている酸素化型ヘム蛋白の吸収と極めて類似する。したがって、この新しい吸収は酵素中のヘムに酸素が結合した酸素化型複合体に基づくと考えられる。

(4) この酸素化型複合体の形成には酸素のみでなくもう一つの基質であるトリプトファンの存在が不可欠であり、他の知見とあわせ考えるとこの複合体はトリプトファン・酸素・酵素よりなる三者複合体である。

(5) Stopped flow 法を用いてこの複合体の反応における役割を調べると、複合体の量がフォルミルキヌレニンの生成速度に比例し、また複合体の分解定数が酵素のターンオーバー数に一致することなどが知られ、したがってこの複合体は本反応の真の反応中間体であり副産物などではない。

以上の知見はこれまで知られていなかった本反応の詳細を明らかにしたと同時に、酵素反応における酸素の中間体の最初の証明例として広く生体酸化反応一般の反応機構解明に一つの手がかりを与えるものと思われる。

### 論文審査の結果の要旨

トリプトファンピロラーゼはトリプトファン代謝の最初の反応を触媒する生理的に重要な酵素であるが、その反応機構についてはじゅうらい多くの研究にかかわらず不明の点が多かった。著者は緑膿菌から約200倍の精製で得られた高純度の酵素標品を用いてその吸収スペクトルから high spin 型プロトヘム蛋白であることを明らかにし、また還元型酵素が活性型であり酸化型酵素は触媒活性を示さぬことを見いだした。ついで反応過程の詳細を調べるため基質である酸素を連続的に供給しながらスペクトルを測定する装置および rapid scan 分光光度計などの新しい装置を用いて反応定常状態における酵素の吸収を観察し、極大吸収を418, 545, 580m $\mu$  にもつ新しいスペクトルを見いだした。このスペクトルはじゅうらい知られているヘモグロビン、ミオグロビンなどのいわゆる酸素化型のそれときわめて類似し、またトリプトファンの存在時にのみ出現することからトリプトファン・酸素・酵素の三者複合体と考えられる。さらに stopped flow 法を用いてこの複合体の量が反応産物の生成速度に比例し、また複合体の分解定数が酵素の turn over 数に一致することからこの複合体は本反応の反応中間体であることを証明した。

以上本論文は学問的に有益であって医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。